



17 MAR 2004

PCT

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung  
einer Patentanmeldung**

**Aktenzeichen:** 102 61 910.7 ✓

**Anmeldetag:** 30. Dezember 2002 ✓

**Anmelder/Inhaber:** Polymerics GmbH, 12681 Berlin/DE

**Bezeichnung:** Adsorbermaterial für Blut-, Blutplasma- und Albuminreinigungsverfahren

**IPC:** B 01 J, A 61 M

351 AVAILABLE COPY

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 29. Januar 2004  
**Deutsches Patent- und Markenamt**  
**Der Präsident**  
Im Auftrag

Hintermeier

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



## Adsorbermaterial für Blut-, Blutplasma- und Albuminreinigungsverfahren

Die Erfindung betrifft ein Adsorbermaterial für Blut-, Blutplasma- und Albuminreinigungsverfahren sowie ein Verfahren zu seiner Herstellung.

Anwendungsgebiete für die Erfindung sind spezielle Blut-, Blutplasma- und Al-

- 5       buminreinigungsverfahren in der Medizin und Pharmazie, die freie und albu-  
mungebundene Toxine sowie Giftstoffe aus dem Blut, Blutplasma bzw. Albumin  
entfernen. Diese Verfahren werden zur Behandlung von Arzneimittel- und Dro-  
genvergiftungen, Vergiftungen mit Chemikalien und hochdosierten Chemothe-  
rapiemedikamenten, akutem und chronischem Nierenversagen, akuten und  
chronischen Lebererkrankungen (wie z.B. Hyperbilirubinämie, Cholestase, he-  
patische Encephalopathie, fulminantes Leberversagen) sowie Multiorganversa-  
gen eingesetzt.

Die konventionellen Methoden der Blutreinigung werden in Membrantechniken  
(Hämodialyse, Plasmapherese, Ultrafiltration), Adsorptionstechniken (Hämo-

- 15      perfusion, Plasmaperfusion) und in kombinierte Membran-Adsorptions-  
Techniken (z.B. MARS®-Verfahren) eingeteilt. Bei den Membrantechniken wird  
ein unerwünschter Stoff aus einem flüssigen Gemisch entfernt, indem man das  
Gemisch über eine semipermeable Membran mit einer Spülösung in Kontakt  
bringt, die den zu entfernenden Stoff nicht enthält (Dialyse). Der Unterschied  
zwischen der Konzentration des zu trennenden Stoffes in dem Stoffgemisch  
und in der Spülösung ist die Triebkraft für den Konzentrationsausgleich. Ist die  
Porengröße der semipermeablen Membran so, daß der zu trennende Stoff hin-  
durchdringen kann, erfolgt der Konzentrationsausgleich durch Permeation des  
zu trennenden Stoffes in die Spülösung. Bei der Hämolyse werden also Mem-  
20      branen eingesetzt, deren Poren groß genug sein müssen für die zu entfernenden  
Toxine und gleichzeitig klein genug, um die Blutbestandteile höherer Molekül-  
größe wie z.B. Albumin, Hämoglobin, Erythrozyten, Leukozyten und Thrombo-  
zyten nicht durchzulassen.

Bei den Adsorptionstechniken (Hämoperfusion, Plasmaperfusion) fließt das Vollblut bzw. nur das Blutplasma durch eine Säule bzw. Kartusche, die mit einem makroporösen Stoff wie Aktivkohle, Adsorberpolymer oder Ionenaustauscher gefüllt ist und wird dabei entgiftet. Bei der Plasmaperfusion müssen vor dem Adsorptionsschritt die Blutzellen zunächst abgetrennt und nach der Behandlung wieder mit dem Blutplasma zusammengeführt werden.

Zu den kombinierten Verfahren der extrakorporalen Blutreinigung gehört das MARS®-Verfahren (Molecular Adsorbent Recirculating System), das eine Kombination aus Dialyse und Perfusion darstellt. Bei dem MARS®-Verfahren wird das Blut des Patienten durch einen Albumindialysator geleitet und danach dem Patienten zurückgeführt. In dem Albumindialysator zirkuliert an der Waschseite reine Albuminlösung in einer Konzentration von 5–20%. Da die meisten Bluttoxine albumingebunden transportiert werden, entsteht so die Triebkraft für die Toxine, die Dialysemembran zu passieren. Die Albuminwaschlösung wird im Anschluß in-line im Perfusionsblock gereinigt, danach einer Standarddialyse unterworfen und wieder zum Albumindialysator zurückgeführt. Mit diesem Prinzip gelingt es, die Entgiftungsfunktion der Leber zu ersetzen, welche bei Leberversagen primär lebensbedrohlich ist.

Hämodialyse, Ultrafiltration und Plasmapherese trennen die Bestandteile des Blutes nach ihrer Größe weitgehend unselektiv. Im Unterschied dazu können Sorptionstechniken sowohl sehr selektiv als auch weniger selektiv arbeiten. Die Membranverfahren benötigen maßgeschneiderte Membranen, die Sorptionstechniken benötigen maßgeschneiderte Adsorbermaterialien.

Als Adsorbermaterialien für extrakorporale Blutreinigungsverfahren werden neben der Aktivkohle zunehmend synthetische, makroporöse Adsorberpolymere eingesetzt. Triebkraft für diese Entwicklung sind die Nachteile von Aktivkohle-materialien. Hierzu zählen geringe mechanische Stabilität, geringe Selektivität und geringe Adsorptionsgeschwindigkeit, ferner hohe Rückhaltung von weißen Blutkörperchen und Blutblättchen und die Initiierung von Blutgerinnseln.

In der Literatur und in Patenten werden folgende polymere Adsorbermaterialien beschrieben:

- poröse und hochporöse Styren-Divinylbenzen-Copolymere,
- makroporöse Divinylbenzen-Copolymere,
- makroporöse Methacrylat- bzw.- Acrylat-Co- und Terpolymere,
- poröse, perlörmige Cellulosederivate.

Adsorbentien aus Aktivkohle bzw. aus beschichteter Aktivkohle, beispielsweise mit einer Lösung aus Polyacrylsäure oder aus Polyacrylsäure und Polyethylendiamin wurde in der SU-732207 beschrieben. Weitere polymere Beschichtungen von Aktivkohle wurden in der US-4048064, US-4171283, US-5420601 und SU-844769 beansprucht. Die Nachteile von Aktivkohlen wie die geringe mechanische Stabilität und geringe Adsorptionsgeschwindigkeit konnten dadurch jedoch nicht beseitigt werden.

Makroporöse Styren-Divinylbenzen-Copolymere wurden zur Entfernung von Barbituraten und Glucothimiden aus dem Hundeblut 1974 in der US-3794584 eingesetzt. In der Folgezeit zeigte sich aber, daß sie in hohem Maße unpolar, unselektiv und blutunkompatibel sind. Hochporöse Styren-Divinylbenzen-Copolymere mit spezifischer Oberfläche über  $800 \text{ m}^2/\text{g}$ , erhalten durch Nachvernetzung von schwachvernetzten Styren-Divinylbenzen-Copolymeren mit Hilfe von Monochlordinmethylether in Gegenwart von Friedel-Crafts-Katalysatoren, wurden zwölf Jahre später 1986 ebenfalls als besonders effektive und schnelladsorbierende Materialien für die Hämoperfusion in der DD-249274A1 beschrieben. Auch diese Adsorberpolymere haben unzureichende Blutkompatibilität und erfordern zusätzliche Nachbehandlungen. Ferner ist ihre Herstellung durch den Einsatz des cancerogenen Monochlordinmethylether mit hohen Risiken für die Menschen und die Umwelt verbunden.

Durch spezielle und aufwendige Modifizierung der Oberfläche von hochporösen Styren-Divinylbenzen-Copolymeren mit Trifluoralkoxyphosphazenen (US-5773384) wird die Blutkompatibilität verbessert. Die nachträgliche Modifizierung verringert jedoch die spezifische Oberfläche und Porenzugänglichkeit und stei-

gert enorm den Reinigungsaufwand, denn alle überschüssigen Reagenzien und Katalysatoren müssen aus den Mikro-, Meso- und Makroporen des Polymeren vor dem Einsatz in der Hämoperfusion entfernt werden.

Die Modifizierung der Oberfläche von hochvernetzten Divinylbenzen-

5 Copolymeren durch Beschichtung oder Propfpolymerisation ist Gegenstand der vor kurzem angemeldeten Patente US-6419830 (2001) und US-6423024 (2002) zur Herstellung von hochporösen, kugelförmigen Divinylbenzenharzen für die Absorption von gesundheitsschädlichen Stoffen wie z.B.  $\beta$ -2-Microglobulin aus Blut oder Plasma. Für die Beschichtung werden kommerziell erhältliche, hoch-  
10 poröse Divinylbenzen-Copolymere eingesetzt, die aus 60 bis 90% Divinylben-zen bestehen, eine spezifische Oberfläche von 200 bis 1600  $m^2/g$  aufweisen, Porengrößen von 20 bis 500 Å mit einem Porengeamtvolumen bis 2,5 ml/g haben und im Korngrößenbereich von 25 bis 2500  $\mu m$  erhältlich sind. Die hä-  
mokompatiblen Schichten werden durch Reaktion der restlichen Vinylgruppen  
15 auf der Oberfläche der DVB-Copolymeren mit hämokompatiblen Monomeren oder Polymeren erhalten, bestehend aus Phosphatidylcholin, Heparin, Polyal-  
kylenglykolen, Polyalkoxyphosphazenen und Polyvinylpyrrolidon. Weitere be-  
anspruchte Beschichtungen bestehen aus verschiedenen Vinylpyridin-, Vinyl-  
imidazol- und Vinylpyrrolidon-Derivaten sowie verschiedenen Acrylsäure- und  
20 Methacrylsäurederivaten. Der offensichtliche Nachteil dieser beiden Patente ist,  
daß die hämokompatible Beschichtung nachträglich erfolgt und wie schon oben aufgeführt ebenfalls zur Reduktion der spezifischen Oberfläche und Porenzu-  
gänglichkeit führt. Ein weiterer Nachteil dieses Verfahrens ist die vollständige  
25 Entfernung der zur Beschichtung verwendeten Monomeren, die in ihrer mono-  
meren Form oft stark gesundheitsschädigend oder sogar cancerogen sind. Die Reinigung der auf diese Weise hämokompatibel modifizierten Polymere ist also aufwendig, kostspielig und nicht ganz risikofrei.

Die aus Polymerlösungen aufgebrachten hämokompatiblen Beschichtungen haben dagegen oft den Nachteil, daß sie sich in wässriger isotonischer Koch-  
30 salzlösung bzw. in Körperflüssigkeiten teilweise lösen und so unkontrolliert in den Blutkreislauf des Patienten gelangen können.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, ein vorwiegend kugelförmiges, biokompatibles Adsorbermaterial zur Verfügung zu stellen, das geeignet ist, freie und albumingebundene Giftstoffe, Drogen, Pharmaka, endogene und exogene Toxine aus dem Blut, Blutplasma bzw. einem externen Albuminkreislauf mit hoher Geschwindigkeit und Kapazität zu entfernen. Ferner soll ein Verfahren bereitgestellt werden, mit dem ein derartiges Adsorbermaterial einfach und mit vertretbarem ökonomischem Aufwand herstellbar ist.

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß als Adsorbermaterial ein hochvernetztes, hochporöses, partikel- bzw. kugelförmiges Divinylbenzen-Copolymer eingesetzt wird, das aus 4 bis 30 Ma% eines oder mehrerer einpolymerisierter nichtsubstituierter oder substituierter Vinylimidazol-Monomere und 50 bis 85 Ma% einpolymerisiertem Divinylbenzen (DVB) sowie 5 bis 40 Ma% einpolymerisiertem Ethyl-Vinyl-Benzen besteht. Geeignete Vinylimidazol-Monomere sind 1-Vinylimidazol und/oder 4-Vinylimidazol allein bzw. im Gemisch. Weitere geeignete Vinylimidazol-Monomere sind 1-Vinyl-2-methylimidazol, 1-Vinyl-2-ethylimidazol, 1-Propenyl-2-methylimidazol und 1-Allyl-2-methylimidazol allein oder in verschiedenen Gemischen miteinander bzw. mit den unsubstituierten Vinylimidazol-Monomeren. Der Anteil der Imidazol-Monomere in dem erfindungsgemäßen Adsorberpolymeren kann in weiten Grenzen, vorzugsweise zwischen 5 und 20 Mol% variiert werden. Geeignete Divinylbenzen-Monomere sind die kommerziell erhältlichen Lösungen von Divinylbenzen bestehend aus 60 bzw. 80 Ma% Divinylbenzenisomeren und 40 bzw. 20 Ma% verschiedener Isomere des Ethyl-Vinyl-Benzens.

Das erfindungsgemäße Adsorbermaterial besitzt insbesondere eine optimierte spezifische Oberfläche im Bereich von 200 bis 900 m<sup>2</sup>/g und eine optimierte Porengrößenverteilung mit einem Gesamtporenvolumen von 1,0 bis 2,0 cm<sup>3</sup>/g. Bevorzugte Ausführungen der Erfindung weisen bis zu 0,3 cm<sup>3</sup>/g Mikroporen, bis 1,2 cm<sup>3</sup>/g Mesoporen und bis 0,5 cm<sup>3</sup>/g Makroporen auf. Nach IUPAC werden Mikroporen definiert als Poren mit einem Porendurchmesser unter 20 Å, Mesoporen sind Poren zwischen 20 und 500 Å und Makroporen sind Poren

größer als 500 Å. Der vorteilhafte durchschnittliche Porendurchmesser liegt zwischen 100 und 500 Å, vorzugsweise bei 300 Å.

Ferner weist das Adsorbermaterial vorzugsweise eine Korngrößenverteilung von 50 bis 300 µm auf, insbesondere dann, wenn es in einem Perfusionsverfahren oder im MARS®-Verfahren eingesetzt werden soll. Für neuartige alternative Plasma- und Blutreinigungsverfahren können die Teilchen auch im Korngrößenbereich von 1 bis 50 µm hergestellt werden. Ein besonderer Vorteil der vorliegenden Erfindung ist, daß die Teilchen vorwiegend kugelförmig sind und in enger Korngrößenverteilung hergestellt werden können.

Das erfindungsgemäße Adsorbermaterial wird nach dem Verfahren der Suspensionspolymerisation in Gegenwart von ausgewählten inerten Stoffen und Suspensionsstabilisatoren hergestellt. Die Inertstoffe werden nach der Polymerisation wieder aus dem Polymeren entfernt. Sie sind in Verbindung mit dem Anteil an DVB im Polymerisationsansatz für den Grad der Porosität verantwortlich, d.h. für die Porengrößenverteilung und Porenvolumen. Als verwendbare Inertmittel seien beispielsweise genannt aliphatische und aromatische Kohlenwasserstoffe, höhermolekulare Alkohole, Ester, bzw. geeignete Polymerlösungen. Bevorzugte erfindungsgemäße Inertstoffe sind: Toluol, Dichlorethan, Tetrachlorkohlenstoff, Butylacetat, Ethylacetat, einzeln oder als Gemisch. Der Anteil des Inertstoffes in der organischen Phase kann im Bereich von 25 bis 50 Ma% variiert werden.

Die Aufgabe der Suspensionsstabilisatoren ist, die Koagulation der Tröpfchen während der Polymerisation zu verhindern. Geeignete erfindungsgemäße Suspensionsstabilisatoren sind wasserlösliche synthetische und natürliche Polymere, z.B. Polyvinylalkohol, teilweise verseiftes Polyvinylacetat, Methylcellulose, Hydroxyethylcellulose, Polyacrylsäure-Natriumsalze, Natriumsalz der Carboxymethylcellulose, ferner Pickering-Stabilisatoren, beispielsweise Calciumphosphat, Bentonite, Montmorillonite, Aluminiumhydroxid, Magnesiumhydroxid, Calciumcarbonat.

Die Suspensionspolymerisation wird mit Hilfe von monomerlöslichen radikalischen Initiatoren gestartet. Geeignete erfindungsgemäße Initiatoren sind Dibenzoylperoxid, Methylethylketonperoxid, Azoisobutyronitril. Vorzugsweise wird die Initiatormenge von 0,2 bis 2,0 Ma% bezogen auf das Gewicht des Monomerisches verwendet.

Das erfindungsgemäß hergestellte Adsorbermaterial weist im Vergleich zu herkömmlichen Aktivkohlen und anderen kommerziellen Adsorbermaterialien wesentlich höhere Adsorptionskapazitäten und Adsorptionsgeschwindigkeiten gegenüber von freien und albumingebundenen Toxinen sowie Giftstoffen auf, insbesondere – wie in den nachfolgenden Beispielen gezeigt wird – gegenüber von Bilirubin-Albumin-Komplexen (B-HSA-Lösungen) und gegenüber von freien Gallensäuren.

Ferner adsorbiert das erfindungsgemäß Adsorbermaterial ebenfalls N-Acetyltryptophan, Octansäure, Fettsäuren, Phenole und Coffein mit wesentlich höherer Geschwindigkeit und Kapazität als die kommerziell erhältlichen Adsorbermaterialien. Außerdem besitzt dieses Adsorbermaterial gute Biokompatibilität, wie in Cytotoxizitätstests und Hämolysetests gezeigt werden konnte. Das Adsorbermaterial lässt sich ohne Beeinträchtigung seiner vorteilhaften Eigenschaften sterilisieren und aufgrund seiner guten mechanischen Stabilität abriebfrei behandeln. Bei der Anwendung in Säulen und Kartuschen zeigt es vorteilhaftes Strömungsverhalten, so daß Durchflußgeschwindigkeiten bis 200 ml/min realisierbar sind: Das erfindungsgemäß Adsorbermaterial wurde in Bilirubin-Humanserum-Albumin-Lösungen sowohl im Batch-Verfahren (statischer Bilirubintest) als auch unter Kreislaufbedingungen (dynamischer Bilirubintest) geprüft.

Die Erfindung wird im folgenden anhand nachstehender Beispiele näher erläutert.

### Beispiel 1

#### Herstellung eines erfindungsgemäßen Adsorbermaterials (AM1)

In einem ummantelten 250-ml-Zylindergefäß, ausgestattet mit KPG-Rührer, Rückflußkühler, Temperaturfühler und 2 Schikanen werden 0,28 g Polyvinylal-

5 kohol mit einer Molmasse von 49000 g/mol in 142,5 g deionisiertem Wasser bei 30 °C gelöst. Danach werden 7,5 g NaCl zugegeben und die Lösung auf 70 °C gebracht. Die Rührgeschwindigkeit wird dabei auf 650 U/min eingestellt. Die Monomermischung, bestehend aus 18,7 g Divinylbenzen, 12,5 g 1-

Vinylimidazol, 18,7 g Ethylacetat und 0,25 g AIBN, wird auf einmal zugegeben.

10 Die entstandene Emulsion wird bis zur Ausbildung stabiler Tröpfchengröße 60 min bei 70 °C gerührt, danach auf 80 °C erhitzt und bei dieser Temperatur 10 h polymerisiert. Die entstandene Suspension wurde danach auf Raumtemperatur abgekühlt, auf einer Filternutsche abfiltriert, zunächst mit 3fachem Bettvolumen an deionisiertem Wasser und danach mit 2fachem Bettvolumen Ethanol gewaschen. Anschließend wurde der Filterkuchen 12 h bei 100 °C in einem Vaku-

15 umtrockenschrank getrocknet.

Die Zusammensetzung des Copolymers wurde mit Hilfe der Elementaranalyse bestimmt. Der gefundene Stickstoffwert betrug 6,2%, das entspricht 20,8 Ma%

bzw. 26,7 Mol% an Vinylimidazol in dem Divinylbenzen-Vinylimidazol-

20 Copolymeren. Die Ausbeute betrug 22 g. Die erhaltenen Partikel waren kugelförmig und lagen im Korngrößenbereich von 50 bis 150 µm (Fig. 1). Die spezifische Oberfläche, bestimmt mit der BET-Stickstoffadsorption, betrug 509 m<sup>2</sup>/g.

Das Gesamtporenvolumen lag bei 1,3 ml/g und setzte sich zusammen aus 0,25 ml/g Mikroporen, 0,75 ml/g Mesoporen und 0,3 ml/g Makroporen in 1 g des Co-

25 polymeren.

### Beispiel 2

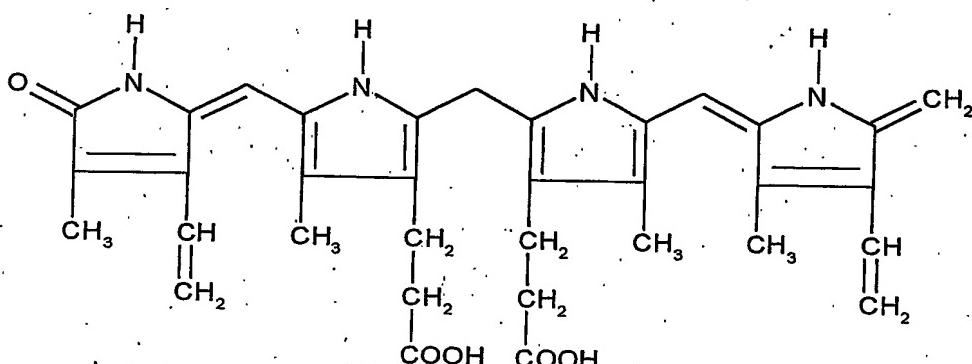
#### Bestimmung des Adsorptionsverhaltens gegenüber von Bilirubin

Die Eignung der erfindungsgemäßen Adsorbermaterialien für die extrakorporale Blutreinigung wurde mit Hilfe eines statischen und eines dynamischen Bilirubin-

30 Adsorptionstests bewertet und mit den zur Zeit in der Medizin üblichen Aktiv-

kohleadsorbenzien verglichen. Es ist bekannt, daß das menschliche Albumin das Bilirubin besonders stark bindet. Aufgrund dessen wird das Adsorptionsverhalten verschiedener Adsorbentien gegenüber Bilirubin-Humanserum-Albumin-Komplexen stellvertretend für zahlreiche weitere albumingebundene Bluttoxine und Giftstoffe betrachtet.

Bilirubin ist ein Abbauprodukt des Hämoglobins (roter Blutfarbstoff) und kommt in den Gallenfarbstoffen vor. Bei Gelbsuchtkranken tritt es in erhöhtem Maße im Blut auf und verursacht die charakteristische Gelbfärbung der Patienten. Bilirubin entsteht normalerweise in der Milz durch oxidative Spaltung des Porphyrin-Rings des Häm's und nachfolgende Hydrierung des grünen Zwischenprodukts Biliverdin. Als Entkoppler oxidativer Phosphorylierung ist Bilirubin hochgiftig für den Organismus und wird deshalb in der Blutbahn an Serum-Albumin gebunden und zur Leber transportiert. Bei Patienten mit akutem Leberversagen kann die Leber das Albumin nicht vom Bilirubin befreien. Diese Aufgabe der Leber sollen selektive Adsorberharze in den Perfusionsverfahren und gegebenenfalls eine selektive Membran in der MARS®-Anlage übernehmen.



Struktur von Bilirubin

#### Herstellung der Testlösung

In Analogie zu den Verhältnissen im menschlichen Organismus wird das Bilirubin zunächst mit Humanserum-Albumin komplexiert und dieser Komplex als B-HSA-Lösung bezeichnet. Hierzu werden 33 mg Bilirubin in ein Eppendorfgefäß eingewogen, mit 1,25 ml 0,1 m NaOH versetzt und unter Lichtausschluß innerhalb von 5 min im Ultraschallbad gelöst. Nach der Auflösung wird der gesamte

Inhalt des Eppendorfgefäßes quantitativ in eine braune 100-ml-Flasche überführt, in der vorher 28 ml 20%ige HSA-Lösung (Aventis) und 84 ml 0,9%ige NaCl-Lösung vorgelegt wurden. Die so hergestellte B-HSA-Lösung enthält 5 Ma% Albumin und 504 µmol Bilirubin pro Liter B-HSA-Lösung.

#### 5 Konditionierung der Adsorbermaterialien

500 mg des getrockneten Adsorbermaterials werden in ein SPE-Säulchen eingewogen und auf einer SPE-Vakuumstation plaziert. Das Adsorbermaterial wird jetzt nacheinander 2 mal mit 5 ml 70 %iger Ethanollösung versetzt, 5 mal mit 5 ml Wasser gewaschen und anschließend 3 mal mit 0,9 %iger NaCl-Lösung gewaschen und dann 2 min trockengesaugt.

#### 10. Statischer Bilirubintest (Batch-Verfahren)

500 mg des konditionierten Adsorbermaterials werden in einem Schüttelgefäß mit 5 ml B-HSA-Lösung versetzt. Anschließend werden die Proben in einem Laborschüttler intensiv geschüttelt. In Zeitabständen von 15, 60 und 120 min wird der Schüttelversuch unterbrochen und aus der überstehenden Lösung 100 µl Probe für die UV-spektroskopische Bestimmung der Bilirubin-Restkonzentration entnommen, mit 0,9 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung verdünnt und in einer 0,2-cm-Küvette vermessen.

Für die Bestimmung der Bilirubin-Restkonzentration wird das langwellige Absorptionsmaximum bei 453 nm genutzt. Die Änderung des Extinktionsmaximums dieser Bande entspricht der Änderung der Bilirubinkonzentration in der B-HSA-Lösung. Als Referenzwert dient die Extinktion der B-HSA-Lösung vor dem Kontakt mit dem Adsorbermaterial. So lassen sich relative Konzentrationsänderungen leicht ermitteln. Üblicherweise wird die verbleibende Bilirubinkonzentration nach 15, 60 und 120 min als Gruppe von 3 Zahlenwerten in % angegeben. Die Referenz-B-HSA-Lösung enthält 5% Humanserum-Albumin und 505 µmol/l Bilirubin. Die Ergebnisse zeigt Fig. 2a.

### Dynamischer Bilirubintest (Kreislaufverfahren)

Zum Vergleich des erfindungsgemäßen Adsorbermaterials mit der zur Zeit in der Medizin üblicherweise eingesetzten Aktivkohle wurde ein dynamischer Bilirubin-Adsorptionstest entwickelt. Dieser Test versucht, die Bedingungen in ei-

- 5 nem konventionellen Perfusionsverfahren bzw. in einer MARS®-Anlage zu simulieren. Hierzu wird das Adsorbermaterial in Festphasenextraktionssäulen („Minikartuschen“) gegeben und auf eine SPE-Station aufgesetzt. Es wird dann wie oben konditioniert und anschließend mit B-HSA-Lösung versetzt. Mit Hilfe leichten Unterdrucks wird die Lösung durch das Adsorbermaterial durchgesaugt und im Filtrat die Bilirubinkonzentration UV-spektroskopisch bestimmt. Das Filtrat wird anschließend erneut in die Säule gegeben und die gesamte Prozedur 7 mal wiederholt. Die Ergebnisse zeigt Fig. 2b.

### Vergleichsbeispiel

Zum Vergleich des Adsorptionsverhaltens des erfindungsgemäßen Adsorber-

- 15 materials wurden die zur Zeit in der Medizin verbreitete Aktivkohle nach dem oben beschriebenen Verfahren konditioniert und sowohl dem statischen als auch dem dynamischen Bilirubintest unterworfen. Die Fig. 2 zeigt das Verhalten der Aktivkohle und der erfindungsgemäßen Adsorbermaterialien im statischen und dynamischen Test nebeneinander:

Die Adsorptionsgeschwindigkeit des erfindungsgemäßen Adsorbermaterials ist wesentlich höher als die der zur Zeit eingesetzten Aktivkohle (statischer Test, Fig. 2a). Die Aktivkohle adsorbiert innerhalb 1 h ca. 60 % des Bilirubins aus der B-HSA-Lösung. Im Vergleich dazu adsorbiert das Adsorbermaterial unter den gleichen Bedingungen fast das gesamte Bilirubin (98–100 %).

- 25 Im dynamischen Test zeigt sich die Überlegenheit des Adsorbermaterials noch deutlicher (Fig. 2b). Während die Aktivkohle unter dynamischen Bedingungen so gut wie nicht adsorbieren kann, zeigt das erfindungsgemäße Adsorbermaterial eine exponentiell verlaufende Abnahme der Bilirubinkonzentration. Nach 7 Durchgängen durch das Adsorberbett beträgt die relative Bilirubin-
- 30 Restkonzentration im Filtrat ca. 25 %. Dieses Ergebnis lässt eine deutliche Ver-

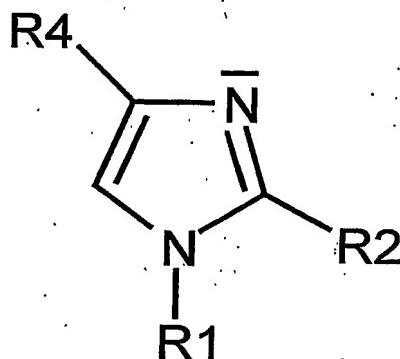
kürzung der Behandlungszeit, eine Steigerung der Wirksamkeit und eine Erhöhung der Überlebenschancen von Patienten mit akutem Leberversagen erwarten.

### Beispiel 3

- 5 200 mg des Adsorbermaterials AM1 wurden in eine 6-ml-SPE-Säule eingewogen und mit 5 ml 70 Ma%iger Ethanollösung, 5 ml dest. Wasser und 5 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung konditioniert. Das so vorbereitete Adsorbermaterial wurde anschließend mit 2 ml einer Gallensäurelösung ( $c = 1 \text{ mg/ml}$ ) in 0,9 %iger NaCl-Lösung beladen. 20  $\mu\text{l}$  des Eluats wurden dann auf eine GPC-Säule HEMA 10 2000 gegeben, mit 0,9 %iger NaCl eluiert und mit RI-Detektor detektiert. Die Beladung mit Gallensäurelösung wurde so oft wiederholt, bis im Chromatogramm ein Peak der Gallensäuren nachgewiesen werden konnte. Aus der Anzahl der Beladungsschritte bis zu diesem Zeitpunkt wurde die Kapazität des Adsorbermaterials zu 210 mg Gallensäuren pro Gramm Adsorbermaterial AM1 15 ermittelt.

## Patentansprüche

1. Adsorbermaterial für Blut-, Blutplasma- und Albuminreinigungsverfahren auf der Basis von hochvernetzten, hochporösen Divinylbenzen-Copolymeren gekennzeichnet dadurch, daß das Divinylbenzen-Copolymere 4 bis 30 Ma% zumindest eines radikalisch einpolymerisierten Imidazol-Monomeren der allgemeinen Formel 1 enthält



10

in der:

R1, R4 = H-Atom, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkylgruppe, Vinyl, Allyl oder Propenyl bedeuten,

R2 = H-Atom oder C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkylgruppe bedeuten.

2. Adsorbermaterial nach Anspruch 1 gekennzeichnet dadurch, daß das Imidazol-Monomere 1-Vinylimidazol und/oder 4-Vinylimidazol ist.
3. Adsorbermaterial nach Anspruch 1 oder 2 gekennzeichnet dadurch, daß das Divinylbenzen-Copolymere aus 50 bis 85 Ma% einpolymerisierten isomeren Divinylbenzen-Monomeren und 5 bis 40 Ma% einpolymerisierten isomeren Ethyl-Vinyl-Benzen-Monomeren besteht..
4. Adsorbermaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 3 gekennzeichnet dadurch, daß es eine spezifische Oberfläche von 200 bis 900 m<sup>2</sup>/g hat.

20

25

5. Adsorbermaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 4 gekennzeichnet dadurch, daß es ein Gesamtporenvolumen von 1,0 bis 2,0 cm<sup>3</sup>/g hat, wobei in 1 g des Materials bis 0,3 cm<sup>3</sup> Mikroporen, bis 1,2 cm<sup>3</sup> Mesoporën und bis 0,5 cm<sup>3</sup> Makroporen enthalten sind.

5

6. Adsorbermaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 5 gekennzeichnet dadurch, daß die Partikel vorwiegend kugelförmig sind und in einem Korngrößenbereich von 1 bis 300 µm, vorzugsweise 50 bis 200 µm oder vorzugsweise 1 bis 50 µm vorliegen.

10

7. Verfahren der Suspensionspolymerisation zur Herstellung des Adsorbermaterials nach Anspruch 1, bei dem die wässrige Phase 5 bis 25 Ma% eines Salzes sowie 0,5 bis 5 Ma% eines Suspensionsstabilisators enthält; die organische Phase 25 bis 50 Ma% eines Inertstoffes enthält und die Polymerisation in Gegenwart von Luft bzw. Sauerstoff geführt wird.

15

8. Verfahren nach Anspruch 7 gekennzeichnet dadurch, daß als Inertstoffe bevorzugt Toluol, Ethylacetat, Butylacetat, Dichlorethan, Tetrachlorkohlenstoff einzeln oder als Gemisch verwendet werden.

20

9. Verfahren nach Anspruch 7 oder 8 gekennzeichnet dadurch, daß als Suspensionsstabilisatoren bevorzugt Polyvinylalkohol oder Methylcellulose oder Hydroxyethylcellulose oder Calciumphosphat oder Aluminiumhydroxid oder Magnesiumhydroxid verwendet wird.

25

10. Verwendung des Adsorbermaterials nach Anspruch 1 bis 6 zur Blutreinigung in Plasma- bzw. Blutperfusionsverfahren.

30

11. Verwendung des Adsorbermaterials nach Anspruch 1 bis 6 im Molecular Adsorbent Recirculating System (MARS®-Verfahren).

12. Verwendung des Adsorbermaterials nach Anspruch 1 bis 6 als Adsorbens für Bilirubin und Gallensäuren.

## Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein Adsorbermaterial für spezielle Blut-, Blutplasma- und Albuminreinigungsverfahren sowie ein Verfahren zu seiner Herstellung. Das erfindungsgemäße Adsorbermaterial ist ein hochvernetztes, hochporöses, kugelförmiges Divinylbenzen-Copolymer, das 4 bis 30 Ma% eines radikalisch einpolymerisierten Vinylimidazol-Monomeren enthält. Das Adsorbermaterial ist biokompatibel und geeignet, freie und albumingebundene Giftstoffe, Drogen, Pharmaka, endogene und exogene Toxine aus dem Blut, Blutplasma bzw. einem externen Albuminkreislauf mit hoher Geschwindigkeit und Kapazität zu entfernen. Es ist besonders geeignet für die Adsorption von Bilirubin und Gallensäuren. Das erfindungsgemäße Adsorbermaterial wird durch Suspensionspolymerisation hergestellt.

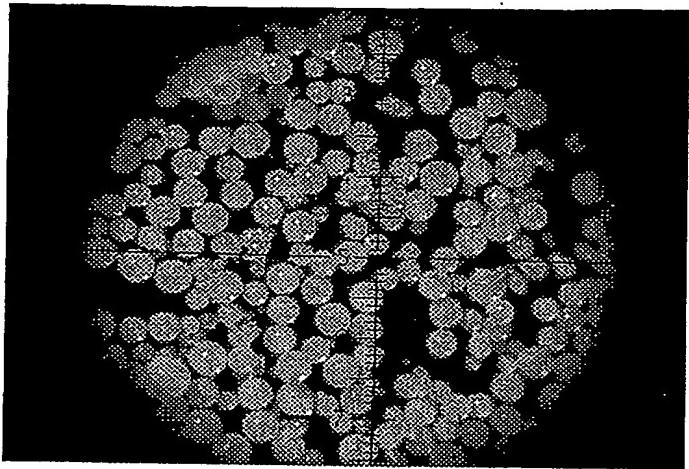


Fig. 1: Teilchenform und -verteilung des Adsorbermaterials aus Beispiel 1

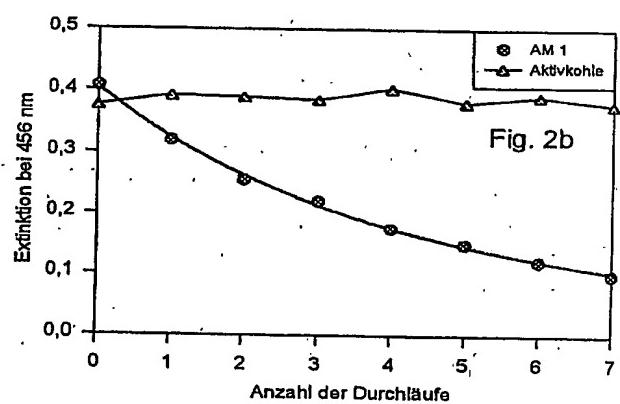
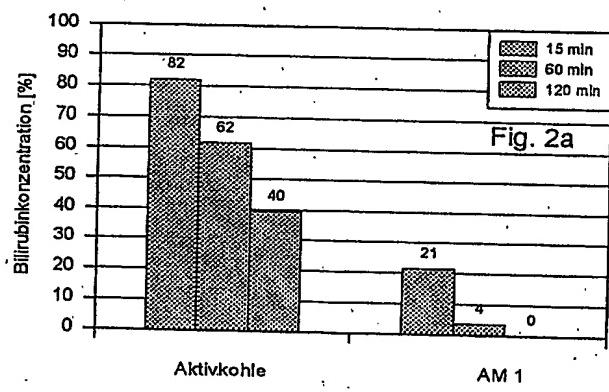


Fig. 2: Vergleich von Aktivkohle und Adsorbermaterial im statischen (a) und dynamischen (b) Bilirubin-Adsorptionstest.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER: \_\_\_\_\_**

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**